



Wpływ mikrobioty macicy na zdrowie kobiety i jej potomstwa

Effect of uterine microbiota on female and offspring health

Barbara Macura^{1,B–D,F}, Monika Majewska-Szczepanik^{1,B–C}, Anna Strzępa^{2,B–C},
Marian Szczepanik^{2,A,E}

¹ Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Polska

² Katedra Biologii Medycznej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Polska

A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych, D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Macura B, Majewska-Szczepanik M, Strzępa A, Szczepanik M. Wpływ mikrobioty macicy na zdrowie kobiety i jej potomstwa. Med Og Nauk Zdr. 2020; 26(3): 230–239. doi: 10.26444/monz/124891

■ Streszczenie

Wprowadzenie. Powszechnie wiadomo, że obecność mikrobioty w organizmie jest ważna dla zdrowia człowieka. W ostatnich latach postęp technik biologii molekularnej nie tylko umożliwił potwierdzenie obecności drobnoustrojów w układzie pokarmowym, oddechowym i moczowym człowieka, ale również doprowadził do wykrycia obecności drobnoustrojów w narządach do tej pory uznawanych za sterylne, takich jak jama macicy.

Cel pracy. W niniejszej pracy dokonano próby opisu składu mikrobioty macicy oraz jej roli fizjologicznej. Ponadto przedstawiono ewentualny wpływ zaburzeń w składzie mikrobioty na rozwój stanów patologicznych w obrębie żeńskiego układu rozrodczego.

Opis stanu wiedzy. Najnowsze doniesienia wskazują na możliwość kolonizacji drobnoustrojami płynu owodniowego, krwi pępowinowej oraz łożyska. Fakt ten sugeruje możliwość wpływu mikrobioty na funkcjonowanie układu rozrodczego i przebieg ciąży, a także na rozwój i stan zdrowia płodu. Stan mikrobioty macicy może być również czynnikiem wpływającym na powodzenie technik wspomaganego rozrodu. Warto podkreślić, że niektóre doniesienia wskazują również na zależność pomiędzy ekspozycją na mikrobiotę w prenatalnym okresie życia a predyspozycjami do pojawienia się pewnych chorób w postnatalnym okresie życia.

Podsumowanie. Wpływ mikrobioty macicy na zaburzenia płodności oraz rozwój płodu i zdrowie przyszłego noworodka stanowi ważne pole dalszych badań naukowych. W przyszłości stan mikrobioty żeńskiego układu rozrodczego powinien odgrywać ważną rolę w codziennej praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe

cięża, mikrobiota, macica

■ Abstract

Introduction. It is well known that the microbiota of the human body is important for human health. The latest technological advances in molecular biology not only confirm the presence of microbial communities in the digestive, respiratory and urinary tracts, but have also led to the detection of the presence of microbiota in niches, previously considered as sterile, for example, in the uterus.

Objective. In this review we attempt to define the composition of uterine microbiota and its physiological role in the female genital tract. Moreover, we present possible consequences of changes in uterine microbiota composition on the development of gynaecologic disorders.

State of knowledge. Recent findings suggest the presence of bacteria in amniotic fluid, the umbilical cord blood and in the placenta. This data imply the influence of the uterine microbiota on reproductive and obstetric outcomes, as well as on foetal development and health status. The state of uterine microbiota can influence the efficiency of assisted reproductive technology. Some evidence suggesting a relationship between prenatal microbiota exposure and increased predisposition to some diseases in adulthood is particularly important.

Conclusions. The influence of the uterine microbiota on fertility disorders, foetus development and newborn health is an important direction of research. In the future, the status of uterine microbiota should play an important role in everyday clinical practice.

Key words

pregnancy, microbiota, uterus

WPROWADZENIE

Przez długi czas uważano, że macica jest narządem sterylnym, to znaczy że w warunkach fizjologicznych nie jest

skolonizowana przez żadne bakterie. W latach 50. XX wieku w wyniku przeprowadzonych badań, bazujących na metodach hodowli bakterii, pojawiły się pierwsze doniesienia sugerujące, że macica jest organem posiadającym swoją własną mikrobiotę. Dalszy rozwój technik diagnostycznych oraz metod biologii molekularnej na początku XXI wieku umożliwił przeprowadzenie powtórnej analizy składu mikrobioty macicy, z uwzględnieniem również tych bakterii, które nie poddają się łatwo hodowli w warunkach laboratoryjnych.

Adres do korespondencji: Barbara Macura, Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Polska
e-mail: macura@uj.edu.pl

Nadesłano: 06.03.2020; zaakceptowano do publikacji: 01.07.2020; publikacja on-line: 11.08.2020

Następnie zastosowanie zaawansowanych metod sekwencjonowania i analizy genomu spowodowało lawinowe pojawienie się publikacji dotyczących mikrobioty macicy. Obecnie mikrobiota macicy jest istotnym kierunkiem badań w naukach związanych z rozrodczością człowieka.

CEL PRACY

Niniejsza praca stanowi próbę przedstawienia najistotniejszych informacji na temat składu mikrobioty macicy, zarówno w stanie zdrowia, jak i choroby. Ponadto praca ta prezentuje aktualny stan wiedzy na temat wpływu mikrobioty macicy na przebieg implantacji i ciąży, a także możliwej kolonizacji płodu mikrobiotą matki i jej wpływu na rozwój zarodka oraz na stan zdrowia dziecka w postnatalnym okresie życia [1, 2].

OGRANICZENIA DIAGNOSTYCZNE W ANALIZIE STOPNIA KOLONIZACJI MACICY

Wielu autorów zwraca uwagę na trudności eksperymentalne i diagnostyczne w ocenie stopnia kolonizacji macicy mikrobiotą.

Benner i wsp. w swojej pracy przeglądowej przytaczają wyniki badań dotyczących składu mikrobioty macicy, bazujących na metodach biologii molekularnej, równocześnie wskazując, jakie czynniki przyczyniają się do trudności w interpretacji wyników doświadczeń i ustalenia prawidłowego składu mikrobioty. Do czynników utrudniających ustalenie prawidłowego składu mikrobioty macicy należy m.in. zanieczyszczenie próbek (mikrobiotą pochwy i szyjki macicy) podczas pobierania materiału, jak również zanieczyszczenie odczynników oraz sprzętu laboratoryjnego. Mikrobiota pochwy, mogąca zanieczyścić badaną próbkę charakteryzuje się większą liczebnością oraz mniejszą różnorodnością niż mikrobiota macicy. Ponadto na uwagę zasługuje fakt, że metody biologii molekularnej wykrywają DNA bakterii, niezależnie od tego, czy pochodzi ono z żywych czy też z martwych komórek [3].

Na podobne problemy zwrócili uwagę w swoich pracach także Baker i wsp., Franasiak i wsp. oraz Perez-Munoz i wsp. [1, 4, 5], wskazując, że tradycyjne metody detekcji mikroorganizmów nie są odpowiednie do identyfikacji bakterii, które są trudne do uzyskania w hodowli. Nowoczesne metody biologii molekularnej umożliwiają rozwiązanie tego problemu, jednak i one mają swoje ograniczenia, związane przede wszystkim z możliwością detekcji DNA pochodzącego z martwych bakterii lub wręcz tylko fragmentów DNA. Ponadto czułe metody biologii molekularnej, przy jednocześnie tak małej liczbie obecnych w tkance bakterii, są narażone na błąd wynikający z zanieczyszczenia, które bardzo łatwo może zafałszować wynik.

Aggaard i wsp. wskazują, że proces zbierania materiału do badania, jego przechowywanie i późniejsza analiza stwarzały możliwość zanieczyszczenia próbek, co jest trudne do uniknięcia. Ponadto warto zaznaczyć, że analiza mikrobioty łożyska, które zostało wydalone przez kanał rodny nie może być porównywana z analizą łożyska uzyskanego w wyniku cesarskiego cięcia. Łožysko uzyskane drogą naturalną zawsze będzie zawierało domieszkę bakterii obecnych w pochwie. Biorąc pod uwagę ograniczenia technik biologii molekularnej i trudności w uzyskaniu hodowli bakterii w laboratorium,

autorzy sugerują ostrożność przy ostatecznym określeniu składu mikrobioty układu rozrodczego kobiet [6].

Benner i wsp. dodatkowo wskazują, że trudności w interpretacji doświadczeń i ustalenie składu prawidłowej mikrobioty są wynikiem prowadzenia badań w różnych populacjach, stosowania różnych metod pozyskiwania próbek oraz różnorodnych metod badawczych. Ponadto trudności w interpretacji uzyskanych wyników badań mogą być spowodowane trudnościami w uzyskaniu właściwej kontroli, badaniami w małych, ściśle wyselekcjonowanych grupach, często obarczonych schorzeniami reprodukcyjnymi lub wytypowanymi do technik wspomaganego rozrodu. Badacze wskazują na potrzebę zaprojektowania standaryzowanych, dobrze kontrolowanych badań z uwzględnieniem czułości różnych metod w celu ostatecznego i pewnego ustalenia składu mikrobioty macicy [3]. Podobnie Koedooder i wsp. zwrócili uwagę na brak porównywalności uzyskanych wyników jako główny problem w wyznaczeniu kierunków dalszych badań – różne techniki badawcze i brak ich standaryzacji, różne populacje badane, zarówno wykazujące odmienne problemy zdrowotne w obrębie układu rozrodczego, jak i bez takich problemów, zmienność wyników zarówno międzyosobnicza, jak i wewnątrzosobnicza, związana z dynamicznym charakterem składu mikrobioty, na którą wpływają różne czynniki endogenne i egzogenne (np. różnice hormonalne lub zażywane leki) [7].

DROGI KOLONIZACJI MACICY

Jednym z podstawowych zagadnień dotyczących mikrobioty macicy jest ustalenie źródła i drogi kolonizacji macicy przez bakterie.

Wyniki licznych badań wskazują, że pochwa jest, przynajmniej częściowo, źródłem bakterii obecnych w macicy. Szyjka macicy, łącząca pochwę i macicę stanowi kanał dla spermy, krwi miesięczkowej i płodu w czasie porodu. Narząd ten jest również miejscem bezpośredniego pasażu bakterii pomiędzy pochwą a macicą. Co więcej, czop śluzowy zamykający ujście macicy nie stanowi całkowicie nieprzepuszczalnej bariery dla bakterii [1].

Ponadto bakterie mogą dotrzeć do jamy macicy również poprzez układ krążenia – z jamy ustnej lub z jelit. Wydaje się to tym bardziej prawdopodobne, że skład mikrobioty jamy ustnej jest zbliżony do składu mikrobioty macicy. Również niektóre bakterie obecne w mikrobiocie jelit wykryto w mikrobiocie macicy [1].

Źródłem bakterii w macicy może być także nasienie. Niektórzy autorzy wspominają nawet o istnieniu wzajemnie uzupełniających się mikrobiocie nasienia i pochwy. Bakterie są więc wspólne dla obu partnerów i partnerzy mogą wzajemnie wpływać na swoją mikrobiotę. Aktywność seksualna obu partnerów w połączeniu z przemieszczaniem się bakterii z jamy ustnej i jelita daje szerokie możliwości wymiany mikrobioty pomiędzy osobnikami. Bakterie z nasienia nie tylko mogą chwilowo zmienić skład mikrobioty pochwy i jej pH, ale również, wraz z plemnikami, dotrzeć do jamy macicy. W kontekście doniesień, że bakterie zasiedlają również łożysko i płód, trzeba więc pamiętać, że mogą to być nie tylko bakterie pochodzenia matczynego, ale również bakterie pochodzenia ojcowskiego [7, 8].

Dodatkowo bakterie mogą również zostać przeniesione do jamy macicy w czasie wykonywania procedur wspomaganego rozrodu (ART, z ang. *assisted reproductive technology*), umieszczania w jamie macicy wkładek antykoncepcyjnych

lub w trakcie innych zabiegów ginekologicznych. Istnieją przypuszczenia, że przemieszczenie bakterii do jamy macicy podczas wykonywania procedur wspomaganego rozrodu może pogorszyć właściwości implantacyjne endometrium [1].

SKŁAD MIKROBIOTY MACICY

Wyniki jednego z najbardziej kompleksowych badań mikrobioty żeńskiego układu rozrodczego zostały przedstawione w pracy Chen i wsp. [9]. Dokonali oni analizy mikrobioty 110 kobiet w wieku reprodukcyjnym, które zostały poddane operacji z powodu schorzeń ginekologicznych nieprzebiegających z równoczesnym wystąpieniem stanu zapalnego. Przed operacją materiał badawczy został pobrany z dolnych dróg układu rozrodczego (dolna część pochwy, tylna część sklepienia pochwy oraz kanał szyjki macicy), natomiast w trakcie operacji próbki do badań pobrano z endometrium, jajowodów oraz zatoki Douglasa. Mikrobiota z dolnych dróg układu rozrodczego zawierała głównie bakterie *Lactobacillus* (pochwa > 99,97%, szyjka macicy > 97,56%). Kwas mlekowy, wytwarzany przez bakterie *Lactobacillus*, obniża pH pochwy do ok. 3,5–4,5, co stanowi środowisko niesprzyjające wzrostowi wielu patogennych gatunków bakterii [9]. Bakterie te, oprócz produkcji kwasu mlekowego, a co za tym idzie obniżenia pH, produkują również bakteriocyny (laktacyna, acydolina) oraz nadtlenek wodoru, które utrudniają wzrost innych bakterii. *Lactobacillus* współzawodniczy również o składniki odżywcze i miejsca receptorowe na powierzchni nabłonka z innymi bakteriami oraz pobudza komórki układu odpornościowego do produkcji przeciwciał [7, 10, 11].

Chen i wsp. we wspomnianej pracy stwierdzili obecność bakterii we wszystkich częściach żeńskiego układu rozrodczego, ale były to bakterie różnego typu i występowały w różnej liczbie (tab. 1). Mikrobiota zmieniała się w sposób ciągły od pochwy do zatoki Douglasa. Mniejsza liczebność mikrobioty w górnej części układu rozrodczego w porównaniu z mikrobiotą pochwy korelowała z większą jej różnorodnością. Ponadto potwierdzono obecność żywych bakterii w górnej części układu rozrodczego, używając standardowych metod hodowlanych. Skład mikrobioty różnił się pomiędzy kobietami i zależał m.in. od fazy cyklu miesięcznego, wieku, urodzenia dziecka, przyjmowania leków, stosowanej antykoncepcji czy zmian patologicznych w obrębie macicy (np. endometrioza, guzy łagodne) [9]. Wspomniane wyniki badania składu mikrobioty pozostają w zgodzie z wynikami badań uzyskanych przez Li i wsp. [12].

Jedna z najnowszych prac z 2019 roku [7] przedstawia analizę literatury na temat składu mikrobioty układu rozrodczego żeńskiego i męskiego (tab. 1). W przypadku 9 prac dotyczących mikrobioty endometrium większość kobiet uczestniczących w badaniach przejawiała problemy z płodnością i zaciążaniem, co utrudniało identyfikację składu mikrobioty zdrowej populacji. Ponadto w części analiz wykorzystywano jedynie metody hodowli i identyfikacji bakterii (2 prace), w innych zastosowano techniki molekularne (6 prac), a w jednym badaniu wykorzystano obie metody diagnostyczne. W przypadku górnych dróg układu rozrodczego żeńskiego zostały przedstawione wyniki 8 badań, z czego również część dotyczyła kobiet z zaburzonymi czynnościami układu rozrodczego. Jedno badanie wykonane zostało metodą hodowli i identyfikacji bakterii, cztery technikami molekularnymi, a trzy z wykorzystaniem obu metod. Ponadto

mikrobiota endometrium ma swój unikalny skład, podobnie jak mikrobiota górnego odcinka układu rozrodczego.

Na uwagę zasługuje fakt, że fizjologiczny skład mikrobioty bakteryjnej, który mógłby zostać uznany za „normę”, nie został w sposób jednoznaczny ustalony [8].

Tabela 1. Mikrobiota występująca w układzie rozrodczym żeńskim

| Część układu rozrodczego żeńskiego | Skład mikrobioty (za Chen i wsp., 2017, praca oryginalna) | Skład mikrobioty (za Koedooder i wsp., 2019, praca przeglądowa) |
|------------------------------------|--|---|
| pochwa | <i>Lactobacillus</i> (> 99,97%) inne | <i>Lactobacillaceae</i> <i>Bifidobacteriaceae</i> <i>Coriobacteriaceae</i> <i>Prevotellaceae</i> (10 prac) |
| kanał szyjki macicy | <i>Lactobacillus</i> (97,56%) inne | <i>Mycoplasmataceae</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Staphylococaceae</i> <i>Streptococaceae</i> (5 prac) |
| endometrium | <i>Lactobacillus</i> (30,6%) <i>Pseudomonas</i> (9,09%) <i>Acinetobacter</i> (9,07%) <i>Vagococcus</i> (7,29%) <i>Sphingobium</i> (5,0%) inne | <i>Lactobacillaceae</i> <i>Streptococaceae</i> <i>Bifidobacteriaceae</i> (4 prace) |
| jajowody | <i>Acinetobacter</i> (18,27%) <i>Comamonas</i> (11,49%) <i>Pseudomonas</i> (9,9%) <i>Pseudomonadaceae</i> (9,1%) <i>Dysgonomonas</i> (5,11%) inne | <i>Lactobacillaceae</i> <i>Mycoplasmataceae</i> <i>Bifidobacteriaceae</i> (3 prace) |

Kolumna 2: przedstawiono tylko te rodzaje bakterii, których udział wynosił $\geq 5\%$ (zmodyfikowano zgodnie z [9]), kolumna 3: przedstawiono tylko te bakterie, których obecność potwierdzono w minimalnej liczbie prac, wskazanej w nawiasie (zmodyfikowano zgodnie z [7]).

FIZJOLOGICZNA ROLA MIKROBIOTY MACICY

Jednoznaczne ustalenie granicy pomiędzy fizjologicznym a patologicznym składem mikrobioty nie jest proste, zwłaszcza że kolonizacja endometrium dotyczy zarówno kobiet z objawami klinicznymi, jak i bez takich objawów. Biorąc pod uwagę niepełny stan wiedzy w tym zakresie, niektórzy badacze przyjęli założenie, że dopóki obecność bakterii w macicy nie wywołuje stanu zapalnego i niepokojących objawów klinicznych, zjawisko to raczej nie wymaga interwencji lekarskiej [3]. Oczywiście stwierdzenie to nie dotyczy tych rodzajów bakterii, których patogenności dowiedziono.

Niektóre badania wskazują, że mikrobiota układu rozrodczego zmienia się wraz ze zmianami hormonalnymi w trakcie cyklu miesięcznego, a także w czasie życia kobiety, od pokwitania do menopauzy. Pytania, jakie się nasuwają, są następujące: czy te dwa czynniki – mikrobiota i poziomy hormonów – wzajemnie na siebie wpływają, a jeśli tak, to w jaki sposób i w jakim stopniu? Czy zmiany hormonalne mogą regulować skład mikrobioty, a mikrobiota macicy może lokalnie wpływać na środowisko hormonalne? Poziomy hormonów płciowych zmieniają się w trakcie cyklu miesięcznego i w czasie życia kobiety. Jeśli wpływają one również na stan mikrobioty, to tłumaczy, dlaczego mikrobiota może ulegać zmianom w trakcie cyklu miesięcznego i całego życia kobiety [3]. Nie wszystkie badania potwierdzają jednak tę teorię [13].

Nie do końca jest również jasne, czy pH wewnątrz macicy może ulegać zmianom pod wpływem mikrobioty, a jeśli tak, to w jakim zakresie i czy ma to wpływać na reprodukcję oraz stany chorobowe [13].

Istnieją doniesienia, że drobnoustroje tworzą złożoną, trójwymiarową strukturę, powlekając błonę śluzową macicy i jajowodów. Wyniki badań wskazują, że kobiety, których mikrobiota endometrium jest zdominowana przez bakterie *Lactobacillus* ($\geq 90\%$), charakteryzują się lepszymi parametrami reprodukcyjnymi (wskaźniki implantacji, ciąż i poronień) w porównaniu do kobiet, u których odsetek bakterii *Lactobacillus* jest obniżony ($\leq 90\%$). Niemniej jednak u niektórych kobiet mikrobiota macicy, w której bakterie *Lactobacillus* nie występują w zdecydowanej przewadze, może również być uznana za fizjologiczną. Być może parametry płodności u kobiet, u których odsetek bakterii *Lactobacillus* w endometrium jest obniżony, zależą też od innych współtowarzyszących bakterii. W chwili obecnej brak jest jednoznacznych informacji na ten temat [4, 7, 13].

Kolejne zagadnienie związane z bardzo zróżnicowanym składem mikrobioty macicy, które aktualnie jest intensywnie rozpatrywane, dotyczy warunków, które mogą modyfikować proporcje w składzie mikrobioty macicy, co w konsekwencji mogłoby mieć wpływ na przebieg niektórych stanów chorobowych.

MOŻLIWE NEGATYWNE KONSEKWENCJE ZDROWOTNE WYNIKAJĄCE Z OBECNOŚCI MIKROBIOTY W MACICY

Moreno i wsp. donoszą o wielu potencjalnych mechanizmach oddziaływania bakterii na komórki endometrium. Zaburzenie systemu połączeń międzykomórkowych prowadzi do osłabienia bariery nabłonkowej i pozwala na wniknięcie bakterii pomiędzy komórki i dalsze niszczenie macierzy zewnątrzkomórkowej i w konsekwencji przenikanie bakterii w głąb tkanki. Metabolity bakteryjne mogą ułatwiać wzrost jednych bakterii i hamować rozwój innych. Dodatkowo wolne rodniki i zmiany w pH dalej pogłębiają zmiany patologiczne w nabłonku. Stan zapalny związany z obecnością bakterii powoduje aktywację układu immunologicznego, co z kolei może spowodować zmiany w składzie mikrobioty macicy. Te wszystkie zmiany mogą przyczynić się do rozwoju choroby w obrębie żeńskiego układu rozrodczego. Bakterie mogą wpływać także na stabilność genomu komórek poprzez oddziaływanie na czynniki transkrypcyjne i powodować inne, genetyczne i epigenetyczne, zmiany w materiale genetycznym [13].

Chroniczny stan zapalny endometrium spowodowany obecnością niektórych bakterii w populacji generalnej sięga ok. 19%, a u pacjentek z problemami z zacięciem w ciążę ok. 45%. Stan ten dotyczy zwłaszcza kobiet z nawracającymi poronieniami oraz brakiem implantacji. Jako że stan ten często jest asymptotyczny i nie wykrywany podczas USG dopochwowego, rzadko jest on podejrzewany i diagnozowany. Niektóre wyniki badań wskazują, że leczenie antybiotykami oparte na wcześniejszej hodowli bakterii i sporządzeniu antybiogramu może poprawić wspomniane powyżej wskaźniki [13, 14]. Pojawiają się również doniesienia sugerujące, że profilaktyczne podawanie antybiotyków przed rozpoczęciem procedur ART nie poprawia współczynników uzyskanych ciąż [7].

Niektóre badania wskazują, że bolesne lub obfite miesiączkowanie może być, przynajmniej częściowo, spowodowane zaburzeniami w składzie mikrobioty macicy [15].

Endometrioza to stan chorobowy, charakteryzujący się obecnością endometrium poza jamą macicy. Stan ten dotyka nawet 10% kobiet w wieku reprodukcyjnym. Przyczyny tego schorzenia nie są do końca jasne. Istnieją przypuszczenia, że być może bakterie obecne w jamie macicy ułatwiają rozwój tego schorzenia poprzez indukowanie przewlekłego stanu zapalnego. Wyniki badań wskazują na obecność dużej liczby bakterii *Escherichia coli* w krwi menstruacyjnej kobiet cierpiących na endometriozę. Z kolei w zmianach endometrialnych w jajnikach znajdowano liczne bakterie *Streptococcaceae* i *Staphylococcaceae*. Być może stan zapalny endometrium ułatwia rozśiew tkanki endometrialnej w obrębie układu rozrodczego i rozwój endometriozy [7, 13]. Pojawiły się doniesienia, że mikrobiota kobiet cierpiących na endometriozę i kobiet zdrowych różni się. Co więcej, antybiotykoterapia u kobiet z endometriozą poprawiała współczynniki uzyskanych ciąż. Sugeruje to, że zmiany w mikrobiocie kobiet cierpiących na endometriozę mogą, przynajmniej częściowo, tłumaczyć zaburzenia reprodukcyjne. Pacjentki cierpiące na endometriozę wykazywały niską liczbę bakterii *Lactobacillaceae*, natomiast wysoką liczbę bakterii *Streptococcaceae*, *Staphylococcaceae* oraz *Enterobacteriaceae*. Autorzy sugerują, że zmiany w mikrobiocie mogą ułatwiać rozwinięcie się endometriozy, natomiast zmiany w endometrium mogą powodować zmiany w składzie mikrobioty [1].

U kobiet, u których stwierdzono polipy endometrialne oraz stan zapalny endometrium, stwierdzono wyższą liczbę bakterii *Firmicutes*, *Lactobacillus*, *Gardnerella*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* i *Alteromonas*. Wysoka zawartość bakterii *Lactobacillus* może być spowodowana rozszczelnieniem bariery szyjkowej w stanach chorobowych układu rozrodczego. Nie wyklucza to jednak możliwości, że nadmierny wzrost liczby bakterii *Lactobacillus* w macicy ułatwia rozwój stanów chorobowych. Niejasne jest jednak, w jaki sposób bakterie te wpływałyby na nabłonek gospodarza. Ponadto wysokie pH w pochwie i niska liczba bakterii *Lactobacillus* mogą korelować z chorobami w obrębie jamy macicy [1].

Kolejna hipoteza dotyczy wpływu mikrobioty macicy na rozwój nowotworów. Sugerowane są różne mechanizmy tego zjawiska: osłabienie apoptozy komórek, stymulacja proliferacji i indukowanie niestabilności genomu. Bakterie nie tylko wywołują stan zapalny i wzmagają produkcję cytokin prozapalnych oraz czynników wzrostu, ale również wpływają na równowagę hormonalną gospodarza. Jak wspomniano, skład mikrobioty macicy może być regulowany hormonalnie. Mikrobiota oraz produkowane estrogeny mogą wzajemnie na siebie wpływać i regulować swoje działanie; przykładowo bakterie wydzielają enzymy wpływające na metabolizm estrogenów. Reasumując, istnieją przypuszczenia, że mikrobiota może odgrywać znaczącą rolę w karcynogenezie, nie tylko poprzez bezpośredni wpływ na materiał genetyczny, ale również poprzez zaburzenie równowagi immunologicznej i hormonalnej w obrębie macicy [1].

Niezbędne jest prowadzenie dalszych badań w celu dokładnego określenia wpływu zmian w składzie mikrobioty macicy na rozwój niektórych schorzeń w obrębie żeńskiego układu rozrodczego.

MIKROBIOTA MACICY A IMPLANTACJA

Kolejnym ważnym zagadnieniem jest wpływ mikrobioty na receptywność błony śluzowej macicy, to jest na zdolność endometrium do przyjęcia implantującego się zarodka. Zaobserwowano, że zaburzony skład mikrobioty może spowodować występowanie chronicznego stanu zapalnego endometrium i w konsekwencji występowanie nawracających niepowodzeń implantacyjnych. Obecnie uważa się, że chroniczny stan zapalny, nawet bez objawów klinicznych, może spowodować bezpłodność. Istnieją przypuszczenia, że mikrobiota macicy wpływa na komórki układu odpornościowego lokalnie występujące w endometrium, co zmienia jego właściwości implantacyjne [3, 10, 16].

D'Ippolito i wsp. przedstawiają przykład bakterii *Chlamydia trachomatis*, która wytwarza białko Pgp3, tworzące kompleks z peptydem LL-37, co neutralizuje jego działanie. Wspomniany peptyd wykazuje działanie antybakteryjne oraz moduluje produkcję cytokin i chemokin przez fibroblasty oraz komórki nabłonka i aktywuje napływ komórek zaangażowanych w reakcję zapalną. Białko Pgp3 prowadzi pośrednio do zahamowania produkcji IL-6 oraz IL-8 w komórkach endometrialnych oraz chemotaksji neutrofilów. W rezultacie dochodzi do zaburzeń w poziomach mediatorów układu odpornościowego endometrium, co może doprowadzić do zmian w receptywności doczesnej [14].

Przyjmuje się, że mikrobiota macicy może działać na nabłonek endometrium i zmieniać jego właściwości immunologiczne w przebiegu kilku mechanizmów, do których zaliczamy: zmianę ekspresji genów kodujących białka zaangażowane w rozwój stanu zapalnego, proliferację i apoptozę, zaburzenie proporcji pomiędzy różnymi typami leukocytów, patologiczny nacieki komórek plazmatycznych oraz zmiany w sekrecji przeciwciał IgM, IgG, IgA oraz interleukin. W konsekwencji może to doprowadzić do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego, obniżenia odpowiedzi na hormony steroidowe, nieprawidłowej sekrecji glikodeliny lub rozwoju pinopodiów, co ostatecznie może spowodować obniżenie wskaźników reprodukcyjnych [14].

Nie można jednak wykluczyć sytuacji odwrotnej, w której przyczyną zaburzeń w procesie implantacji może być stan zapalny, będący efektem nieprawidłowego działania układu immunologicznego. A więc niepowodzenia reprodukcyjne mogą być również efektem deregulacji czynności komórek układu immunologicznego w obrębie endometrium [3].

Warto zaznaczyć, że wyniki niektórych badań wskazują na to, że zmieniona mikrobiota jajowodów i endometrium, a zwłaszcza zmniejszenie odsetka bakterii *Lactobacillus*, może obniżyć współczynnik udanych zabiegów zapłodnienia *in vitro* [10, 14, 17]. Wydaje się, że mikrobiota zdominowana przez bakterie *Lactobacillus* (> 90%) koreluje z większym prawdopodobieństwem sukcesu reprodukcyjnego, co potwierdza fakt, że pacjentki poddawane procedurze zapłodnienia *in vitro* (ang. *in vitro fertilization*, IVF) posiadały mikrobiotę endometrium ze współczynnikiem obecności bakterii *Lactobacillus* < 90%. Problemy implantacyjne u tych pacjentek pogłębiały się, zwłaszcza jeśli wzrastała liczba bakterii *Gardnerella* oraz *Streptococcus* [7]. Niektóre wyniki badań nie potwierdzają jednak w sposób jednoznaczny zależności pomiędzy obecnością różnych bakterii a efektywnością zabiegów *in vitro* [3].

Wydaje się, że mikrobiota macicy, komórki układu immunologicznego oraz hormony tworzą wzajemnie

przenikające się płaszczyzny, tworzące środowisko dla implantacji i rozwoju ciąży, a relacje pomiędzy nimi nadal pozostają niejasne [3].

MIKROBIOTA MACICY A CIĄŻA

Przez wiele lat uważano, że drobnoustroje wchodzące w skład mikrobioty kolonizują dziecko dopiero w chwili porodu, a sposób porodu (drogą przezpochwową lub poprzez cesarskie cięcie) jest ważnym czynnikiem modyfikującym skład mikrobioty dziecka [2]. Doniesienia wskazujące na obecność bakterii w płynie owodniowym, endometrium, krwi pępowinowej oraz smółce zmieniło wcześniej panujący pogląd, iż pierwszy kontakt dziecka z drobnoustrojami ma miejsce dopiero w chwili jego narodzin.

Pelzer i wsp. przedstawili zbiorczo wyniki badań składu mikrobioty łożyska, błon płodowych oraz płynu owodniowego. Skład mikrobioty z wymienionych trzech obszarów macicy ciężarnej był zbliżony, zwłaszcza w odniesieniu do błon płodowych i płynu owodniowego (tab. 2) [18]. Również inni autorzy potwierdzają, że bakterie wchodzące w skład mikrobioty łożyska są nieliczne i mało zróżnicowane, ale metabolicznie aktywne, a profil mikrobioty jest zbliżony do mikrobioty jamy ustnej [6, 10, 19]. Badania Zhu i wsp. wskazują, że doczesna (błona śluzowa macicy w czasie ciąży) oraz płyn owodniowy są skolonizowane głównie przez bakterie *Enterobacteriaceae*. Bakterie w płynie owodniowym zostały wykryte jedynie metodami biologii molekularnej (nie w hodowli), co może wynikać np. z oporności bakterii na hodowlę lub obecnością w materiale jedynie martwych bakterii [20]. Należy jednak podkreślić, że wyniki tych badań nie zostały jednoznacznie potwierdzone przez innych badaczy. Przykładowo Leiby i wsp. nie stwierdzili obecności bakterii w łożysku [21], a Rehinder i wsp. nie stwierdzili obecności bakterii w płynie owodniowym ciąży przebiegającej bez powikłań [22].

Tabela 2. Obecność bakterii w łożysku, błonach płodowych oraz w płynie owodniowym, potwierdzona metodami biologii molekularnej (zmodyfikowano zgodnie z [18])

| Łożysko | Błony płodowe | Płyn owodniowy |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| <i>Acinetobacter</i> spp. | <i>Acinetobacter</i> | <i>Bergeyella</i> sp. |
| <i>Bacillus</i> | <i>Ananomyxobacter</i> sp. | <i>Campylobacter</i> sp. |
| <i>Bacteroidales</i> | <i>Bacteroides</i> spp. | <i>Citrobacter</i> spp. |
| <i>Bifidobacterium</i> spp. | <i>Burkholderia</i> sp. | <i>Clostridiales</i> |
| <i>Enterobacter</i> spp. | <i>Caprocycophaga</i> sp. | <i>Haemophilus influenzae</i> |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Eikenella corrodens</i> | <i>Leptotrichia amnionii</i> |
| <i>Fusobacterium</i> spp. | <i>Enterobacter</i> sp. | <i>Shigella</i> spp. |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | <i>Enterococcus</i> spp. | <i>Sneathia</i> spp. |
| <i>Gardnerella</i> spp. | <i>Haemophilus</i> sp. | <i>Streptococcus agalactiae</i> |
| <i>Haemophilus parainfluenzae</i> | <i>Klebsiella</i> sp. | <i>Ureaplasma parvum</i> |
| <i>Lachnospiraceae</i> | <i>Leptotrichia</i> sp. | |
| <i>Lactococcus</i> | <i>Porphyromonas</i> spp. | |
| <i>Lysinibacillus</i> | <i>Sneathia</i> spp. | |
| <i>Neisseria</i> spp. | <i>Streptococcus intermedius</i> | |
| <i>Nitrobacter</i> | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | |
| <i>Prevotella melaninogenica</i> | <i>Streptococcus sanguis</i> | |
| <i>Rhodococcus</i> | <i>Streptococcus viridans</i> | |
| <i>Solibacillus</i> | <i>Streptosproangium</i> sp. | |
| <i>Sporosarcina</i> | <i>Veillonella</i> sp. | |
| <i>Streptococcaceae</i> | <i>Xanthomonas</i> sp. | |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | | |
| <i>Unclassified Bacillales</i> | | |
| <i>Ureaplasma parvum</i> | | |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> | | |
| <i>Veillonellaceae</i> | | |

Ponadto inne doniesienia wskazują, że podobieństwo mikrobioty płynu owodniowego i smółki sugeruje, że politykanie przez płód płynu owodniowego przyczynia się do kolonizacji przewodu pokarmowego. Obecność bakterii w smółce uzyskanej prawie zaraz po narodzinach dziecka potwierdza kolonizację przewodu pokarmowego dziecka jeszcze przed porodem [2, 10, 23]. Bakterie wykryto również w krwi pępowinowej pochodzącej z ciąż zakończonych cesarskim cięciem [18, 23]. Z kolei Perez-Munoz i wsp. przedstawiają wyniki badań zarówno potwierdzające, jak i niepotwierdzające kolonizacji płodu, wód płodowych, łożyska oraz smółki [5]. Pojawia się hipoteza, że kolonizacja płodu mikrobiotą jest możliwa, ale być może nie zawsze występuje [3].

Bakterie dostają się do jamy macicy i przedziału maczyno-płodowego z pochwy oraz drogą krwi z jelit i jamy ustnej. Słabe połączenia międzykomórkowe w nabłonku jelit i jamy ustnej ułatwiają rozprzestrzenianie się niewielkiej liczby bakterii w organizmie i zasiedlanie innych tkanek [13, 18]. Kobiety z problemami zdrowotnymi w obrębie jamy ustnej w czasie ciąży wykazują podwyższone ryzyko komplikacji ciążowych, ponieważ wzrost przepuszczalności naczyń krwionośnych dziąseł ułatwia przedostanie się bakterii do krwioobiegu i dalej do macicy [10]. Warto zaznaczyć, że mikrobiota jelita, jamy ustnej, pochwy oraz skóry matki zmienia się w trakcie ciąży, co może wpłynąć również na stan zdrowia płodu [2, 10, 18, 23]. Obecnie uważa się, że mikrobiota jelitowa adaptuje organizm kobiety do ciąży poprzez wpływ na układ odpornościowy oraz metabolizm składników pokarmowych [23].

Warto zaznaczyć, że stan dysbiozy u matki niesie ryzyko rozwoju stanów chorobowych u płodu. Otyłość powoduje zmiany w mikrobiocie jamy ustnej, jelit i dolnej części układu rozrodczego, a to z kolei może zwiększyć ryzyko dysbiozy w obrębie łożyska. Wyniki innych badań wskazują, że u kobiet ze zdiagnozowaną cukrzycą ciążową zmieniona jest również mikrobiota łożyska [18]. Coraz więcej doniesień wskazuje również na udział drobnoustrojów w takich stanach ciążowych jak zahamowanie wzrostu wewnątrzmacicznego, stan przedrzucawkowy i cukrzyca ciężarnych [13, 24].

Obecnie panuje pogląd, że pierwsza kolonizacja przewodu pokarmowego ma krytyczne znaczenie dla rozwoju płodu. Mikrobiota macicy znacząco wpływa w trakcie ciąży na immunologiczne i metaboliczne programowanie płodu. Możliwe, że obecność bakterii (niekoniecznie żywych) powoduje właściwy rozwój układu immunologicznego, gdyż mikrobiota stanowi źródło potencjalnych antygenów [2, 10, 18]. Wczesna kolonizacja organizmu dziecka umożliwia rozwinięcie tolerancji na drobnoustroje zasiedlające dziecko w dużej liczbie zaraz po urodzeniu. Pomaga również w ustaleniu prawidłowego profilu mikrobiologicznego u dziecka [10]. Kolonizacja płodu może również utrudniać rozwój bakterii patogennych oraz przygotować jelito noworodka na przyjęcie pokarmu [13].

Układ immunologiczny płodu jest ekspozycyjny na drobnoustroje mikrobioty matki, co w istotny sposób wpływa na kształtowanie się układu immunologicznego rozwijającego się organizmu m.in. za pośrednictwem wzorców molekularnych, związanych z patogenami (ang. *pathogen-associated molecular patterns* – PAMPs), rozpoznawanych przez receptory toll-podobne (*toll-like receptors* – TLRs). Bakterie mogą również wydzielać krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (*short chain fatty acids* – SCFAs), które aktywują limfocyty T oraz modulują produkcję IL-10. Komórki T błon śluzowych,

obecne u płodu od drugiego trymestru, rozpoznają metabolity bakteryjne i produkują cytokiny prozapalne. Wyniki badań wskazują, że na kolonizację bakteryjną płodu wpływają m.in. dieta i nadwaga matki, cukrzyca, atopowe zapalenie skóry i przyjmowanie antybiotyków w trakcie ciąży. Niektóre doniesienia wskazują, że mikrobiota może wpływać na rozwój układu nerwowego płodu i w konsekwencji promować rozwój chorób neurorozwojowych, np. autyzmu. Ponadto obserwuje się korelację pomiędzy dysbiozą w obrębie jelit płodu a pojawieniem się chorób alergicznych oraz otyłości w późniejszym okresie życia [2, 25].

Wykazano, że niektóre bakterie posiadają zdolność wydzielania folianów, które odgrywają ważną rolę w prawidłowym rozwoju układu nerwowego, jak również produkują neuroprzekazniki, takie jak serotonina, dopamina czy GABA. Istnieją doniesienia mówiące o tym, że stosowanie probiotyków w czasie ciąży spowodowało u matki redukcję częstości przedterminowych porodów, zmniejszenie liczby przypadków cukrzycy ciężarnych, zapobiegało kolonizacji przez patogenne szczepy bakterii, ułatwiało detoksykację metali ciężkich oraz pestycydów i redukowało częstość infekcji pochwy i układu moczowego. Wykazano również pozytywny wpływ suplementacji matki probiotykami na ekspresję receptorów TLR w jelicie płodu, a u noworodków zaobserwowano redukcję częstości występowania kolek, nekrozy jelit (NEC), schorzeń alergicznych, oporności na antybiotyki, jak również prawidłowy rozwój układu immunologicznego. Probiotyki stosowane w czasie ciąży redukują także ryzyko nadwagi u matki i dziecka po porodzie, jak również wpływają na produkcję mucyny w jelicie. To wskazuje na rozważenie zasadności stosowania probiotyków w okresie prenatalnym i neonatalnym [10]. Wpływ antybiotyków i probiotyków na mikrobiotę łożyska i późniejsze zdrowie dziecka i jego mikrobiotę wymaga dalszych badań [18].

Skład mikrobioty matki w czasie ciąży wpływa więc na skład mikrobioty płodu, a kolonizacja płodu niesie wiele nie do końca znanych i możliwych do przewidzenia konsekwencji [2].

WPŁYW MIKROBIOTY POCHWY I JAMY USTNEJ NA MIKROBIOTĘ MACICY I ZABURZENIA REPRODUKCYJNE

Mikrobiota w organizmie człowieka występuje na komórkach nabłonkowych błon śluzowych oraz skóry. Jak już wcześniej wspomniano, bakterie nie tylko z pochwy, ale i z jamy ustnej mogą przedostawać się do jamy macicy i wpływać na bytującą tam mikrobiotę, modyfikując jej skład oraz wywołując negatywne skutki zdrowotne. Kolonizacja macicy przez bakterie bytujące w pochwie jest związana z bezpośrednią bliskością anatomiczną obu tych narządów. W przypadku przewodu pokarmowego największym źródłem bakterii kolonizujących macicę jest jama ustna.

W okresie dojrzałości płciowej prawidłowa biocenoza pochwy charakteryzuje się obecnością ok. 100 rodzajów bakterii tlenowych i beztlenowych. Skład mikrobioty pochwy może ulegać znacznym zmianom ilościowym i jakościowym, np. w stanach zaburzonej równowagi hormonalnej, w czasie antybiotykoterapii, ciąży czy menstruacji; skład ten jest zależny również od nawyków higienicznych oraz seksualnych. W 1 ml wydzieliny pochwowej znajduje się 10^2 – 10^{11} bakterii [11, 26, 27, 28]. Obok zdecydowanie dominujących

bakterii *Lactobacillus* w wydzielinie pochwy występują również bakterie: *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Mobiluncus*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Bacterioides*, *Porphyromonas*, *Eubacterium*, *Gardnerella*, *Bifidobacterium*, *Klebsiella*, *Fusobacterium*, *Sarcina*, *Listeria*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma* [11, 28]. Mikrobiota pochwy zmienia się również w czasie cyklu miesięcznego: największa liczba bakterii *Lactobacillus* w pochwie występuje w fazie wydzielniczej, podczas gdy liczba innych bakterii wzrasta w fazie proliferacyjnej, a liczba grzybów *Candida* osiąga najwyższe wartości przed miesiączką [11].

Na szczególną uwagę zasługuje możliwość transmisji drobnoustrojów z pochwy do macicy w czasie ciąży. Ciąża jest szczególnym okresem w życiu kobiety, kiedy to zmiany hormonalne i immunologiczne w jej organizmie sprzyjają rozwojowi bakteryjnego i grzybiczego zapalenia pochwy [11, 29]. Zaburzenie ekosystemu pochwy powodujące zmniejszenie liczby bakterii *Lactobacillus* może doprowadzić do wystąpienia stanu zwanego bakteryjnym zakażeniem pochwy (lub waginozą bakteryjną – BV). W stanie tym dochodzi do nadmiernego rozwoju innych bakterii, często bez pojawiających się równocześnie oznak stanu zapalnego [11, 29, 30].

Kolonizacja macicy przez drobnoustroje jest prawdopodobnie ułatwiona przez działanie mykoplazm (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* oraz *Ureaplasma urealyticum*), które posiadają zdolność wnikania w błony płodowe. Powoduje to rozwój w ich obrębie stanu zapalnego, a tym samym osłabienie ich funkcji i zwiększenie ryzyka przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. W ten sposób dochodzi do otwarcia wrót zakażenia dla innych bakterii zasiedlających pochwę i możliwości rozwoju zakażenia wód płodowych oraz samego płodu. Infekcje te, zwane wstępującymi, mogą być wywołane zarówno przez bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. Bakterie te to głównie paciorkowce β hemolizujące oraz pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*. W czasie porodu również może dojść do zakażenia noworodka, poprzez jego bezpośredni kontakt z drobnoustrojami zasiedlającymi kanał rodny. Drobnoustrojami tymi mogą być dwoinki rzeżączki, chlamydia czy pałeczki listeriozy [11, 31–34]. Oprócz bakterii ważną częścią mikrobioty pochwy są również grzyby i wirusy, których rola w zakażeniach macicznych jest słabo poznana [26, 30]. Waginoza bakteryjna jest jednym z czynników ryzyka poronień samoistnych, porodów przedwczesnych, zakażeń wewnątrzmacicznych, przedwczesnego odpływania płynu owodniowego, hipotrofii wewnątrzmacicznej czy zapalen błony śluzowej macicy i narządów miednicy mniejszej [11, 26, 30]. U kobiet ciężarnych częstość występowania waginozy bakteryjnej waha od 1,6% u kobiet z prawidłowo przebiegającą ciążą do 14,2% u kobiet z zagrażającym porodem przedwczesnym [11].

Do najważniejszych bakterii powodujących zakażenie wstępujące wód płodowych oraz płodu należą paciorkowce β -hemolizujące grupy B [11, 35]. *Streptococcus agalactiae* jest drobnoustrojem komensalnym, kolonizującym pochwę, kanał szyjki macicy, odbytnicę i skórę. Szacuje się, że 10–30% zdrowych kobiet, bez objawów klinicznych, jest nosicielkami *S. agalactiae*. Bakteria ta bytuje głównie w dolnym odcinku przewodu pokarmowego. Obecność *S. agalactiae* w pochwie może świadczyć o zanieczyszczeniu z odbytu. Jak już wspomniano, czas ciąży jest okresem zwiększonego ryzyka rozwoju infekcji układu rozrodczego. Najczęstszą drogą zakażenia płodu jest droga wstępująca, zarówno przy pęknięciu błon płodowych, jak i w przypadku zachowanej

ciągłości błon płodowych. U kobiet ciężarnych *S. agalactiae* może spowodować zapalenie błon płodowych, przedwczesne ich pęknięcie, wcześniactwo, niską masę urodzeniową noworodka, zakażenie dróg moczowych, gorączkę, złe samopoczucie, a także wewnątrzmaciczne obumarcie płodu, a nawet posocznicę czy zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Ryzyko przeniesienia zakażenia na płód wynosi ok. 20–30%, a ryzyko zachorowania noworodka ok. 1%; natomiast posocznica występuje u ok. 0,1% noworodków. Istnieją doniesienia, że zakażenie *S. agalactiae* może spowodować nawet zgon ciężarnej. U noworodków zakażenie tą bakterią może mieć przebieg bezobjawowy, ale wymaga obserwacji, gdyż w niektórych przypadkach może doprowadzić do rozwoju posocznicy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych [11, 35].

Drugą intensywnie obecnie badaną populacją mikrobiologiczną, która wpływa na funkcjonowanie układu rozrodczego kobiety, są drobnoustroje jamy ustnej. Jama ustna zawiera od 50 do 100 mld bakterii. Mikrobiota jamy ustnej różni się od mikrobioty innych miejsc i jest silnie zróżnicowana ze względu na obecność wielu nisz, takich jak różne obszary języka, powierzchnia zębów, błona śluzowa policzka, miękkie i twarde podniebienie oraz dziąsła. Najbardziej zróżnicowane i bogate w mikroorganizmy są populacje znajdujące się na zębach, tworzące biofilmy [36].

Pierwsze kolonizujące jamę ustną drobnoustroje w okresie okołourodzeniowym to *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* i *Streptococcus sanguinis*, które modyfikują środowisko i umożliwiają wzrost bardziej wymagających bakterii, takich jak *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella* i *Neisseria*. Pojawienie się w okresie wczesnego dzieciństwa zębów i, w konsekwencji, szczelin dziąsłowych powoduje wytworzenie nowych siedlisk dla mikroorganizmów, zwiększając liczbę *Leptotrichia* i *Campylobacter* [37]. Te sekwencyjne zmiany zostają zatrzymane w momencie wytworzenia względnie stabilnej populacji mikroorganizmów w jamie ustnej. Skład mikroflory jamy ustnej (podobnie jak mikroflory bytującej w innych narządach) może ulegać jednak wahaniom wraz ze zmianą stanu zdrowia, a także nawyków żywieniowych oraz pielęgnacyjnych zębów.

Co ciekawe, zaobserwowano, że mikrobiota jamy ustnej zmienia się w trakcie ciąży. U ciężarnych kobiet w populacji japońskiej zaobserwowano zwiększenie ilości mikroorganizmów w jamie ustnej i zmianę składu mikrobioty wraz z postępem ciąży w porównaniu do kobiet nieciężarnych. W pierwszym i drugim trymestrze zaobserwowano podwyższoną liczbę *Porphyromonas gingivalis* oraz *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* oraz niezmienną liczbę *Prevotella intermedia* oraz *F. nucleatum* w bruzdach dziąsłowych. Wraz z postępem ciąży zaobserwowano namnażanie się organizmów należących do *Candida*, których liczba znacząco wzrastała w drugim i trzecim trymestrze ciąży [38].

Szczególnie ważna może być zależność pomiędzy mikrobiotą jamy ustnej a nieprawidłowościami w przebiegu ciąży [39, 40]. Od czasu gdy po raz pierwszy zaobserwowano zależność pomiędzy chorobami przyzębia a niską masą urodzeniową płodu, [41] liczne, choć nie wszystkie, badania epidemiologiczne wykazały związek pomiędzy chorobami przyzębia a przedwczesnym porodem, ograniczeniem wzrostu płodu, niską masą urodzeniową, stanem przedrzucawkowym oraz cukrzycą ciężarnych. Metaanalizy wskazują na istnienie nieznacznego związku pomiędzy paradontozą a przedwczesnym porodem oraz niską masą urodzeniową [42]. Silniejsza

zależność została zaobserwowana pomiędzy paradontozą a stanem przedrzucawkowym [43] oraz cukrzycą ciążową [44]. Podobne obserwacje poczyniono w modelach mysich, gdzie infekcja *P. gingivalis* prowadziła do zahamowania wzrostu wewnątrzmacicznego [41] oraz promowała przedwczesny poród [45]. Negatywny wpływ bakterii promujących choroby przyzębia potwierdzono również w doświadczeniach na *F. nucleatum*, gdzie dożylne podanie tego mikroorganizmu indukowało poród przedwczesny lub martwy [46].

P. gingivalis oraz cząsteczki z nim związane znajdowane są nie tylko w krążeniu, ale również w łożysku [47], zarówno u zdrowych kobiet, jak i tych z komplikacjami ciążowymi, przy czym kobiety z nadciśnieniem charakteryzował wyższy poziom kolonizacji [47]. Nie tylko stopień kolonizacji, ale również umiejscowienie patogenu może odgrywać istotną rolę. Zaobserwowano, że *P. gingivalis* był obecny w syncytiotrofoblastie zarówno w ciążach zakończonych porodem przedwczesnym, jak i w ciążach donoszonych. Warto podkreślić, że obecność patogenu w komórkach mezenchymalnych kosmka łożyskowego zawsze łączyła się z przedwczesnymi porodami [48]. Wykrycie *P. gingivalis* w sznurze płopowinowym związane było z rozwojem stanu przedrzucawkowego [48]. Mechanizmy negatywnego wpływu *P. gingivalis* na przebieg ciąży nie są do końca poznane. Uważa się, że zarówno komensalna, jak i patologiczna mikrobiota jamy ustnej przedostaje się do krwioobiegu, a następnie zasiedla łożysko, prowadząc do aktywacji odpowiedzi immunologicznej, której zbalansowanie jest szczególnie istotne dla prawidłowego przebiegu ciąży. Kobiety cierpiące na paradontozę wykazują podwyższone poziomy cytokin prozapalnych w surowicy [49] oraz białka C-reaktywnego [50].

Zaobserwowano, że infekcja *P. gingivalis* ciężarnych myśli podnosi poziom prozapalnych cytokin TNF- α , IL-17, IL-6 oraz IL-1 β w krążeniu [45]. Podwyższony poziom IL-2 oraz IFN- γ z jednoczesną redukcją IL-10 obserwowany był również w łożysku [41]. Oprócz zmian na poziomie immunologicznym obserwowane były uszkodzenia, a nawet zmiany nekrotyczne komórek trofoblastu oraz komórek śródbłonna [45]. Nieprawidłowości te nie mogą być jednak wyłącznie łączone z zaburzeniami na poziomie układu immunologicznego. *P. gingivalis* produkuje kilka czynników wirulencji, z których najistotniejszymi są proteazy, gingipainy. Infekcja szczepami nieprodukującymi patogennych gingipain prowadziła do ograniczenia liczby przedwczesnych porodów [51]. Podobny efekt obserwowany był, gdy zastosowano inhibitory gingipain [51].

Poznanie interakcji pomiędzy wieloma, często dopiero badanymi i odległymi anatomicznie, niszami mikrobiologicznymi w organizmie człowieka może umożliwić w przyszłości określenie ich znaczenia dla zdrowia człowieka.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że obecność wielu tych samych rodzajów bakterii stwierdzono zarówno w łożyskach i płynie owodniowym ciąż zakończonych o czasie, jak i powikłanych porodem przedwczesnym, poronieniem, zapaleniem błon płodowych, przedwczesnym pęknięciem błon płodowych czy urodzeniem martwego dziecka. Sugeruje to dużą osobniczą zmienność efektu interakcji gospodarz-bakterie i bakterie-bakterie, związaną z występowaniem innych, nie do końca znanych, czynników modulujących, wpływających na wystąpienie powyższych zaburzeń ciążowych. Istnieją doniesienia wskazujące, że bakterie *Lactobacillus* okazały się mniej powszechne w łożyskach pochodzących z przedterminowych porodów [13, 18, 23, 52]. Co ciekawe,

wykazano, że profilaktyczne stosowanie antybiotyków nie obniżyło częstości występowania porodów przedwczesnych. Oczywiście w przypadku stanu zapalnego błon płodowych, spowodowanego infekcją bakteryjną podawanie antybiotyków jest wysoce wskazane, gdyż redukuje stan zapalny, a w konsekwencji ogranicza ryzyko infekcji płodu i przedwczesnego porodu [13].

MIKROBIOTA MATKI A MIKROBIOTA NOWORODKA

Niektóre doniesienia wskazują, że wpływ mikrobioty matki na dobrostan dziecka nie kończy się w chwili porodu, ale może rozciągać się daleko w jego postnatalnym okresie życia.

Dziecko urodzone naturalnie jest dodatkowo kolonizowane mikrobiotą pochodzącą z kanału rodowego matki, a dziecko urodzone poprzez cesarskie cięcie jest kolonizowane mikrobiotą pochodzącą ze skóry matki. Co więcej, wykazano, że mikrobiota dzieci urodzonych siłami natury po pewnym czasie staje się podobna do flory bakteryjnej występującej w przewodzie pokarmowym matki w większym odsetku przypadków niż w przypadku dzieci urodzonych poprzez cesarskie cięcie [5].

Wyniki badań wskazują, że skład mikrobioty jelit dzieci urodzonych o czasie i przedwcześnie jest różny. Dane te sugerują, że dziecko jest kolonizowane w okresie prenatalnym, a skład jego mikrobioty ulega zmianie w czasie trwania ciąży. Po porodzie mikrobiota skóry, błony śluzowej jamy ustnej, wydzieliny nosogardzieli oraz smółki dziecka jest podobna do mikrobioty pochwy matki, natomiast mikrobiota jelitowa dziecka jest podobna do mikrobioty jelitowej matki. Obecnie uważa się, że bakterie jelitowe dziecka nie pochodzą raczej z kontaktu kału matki-jama ustna dziecka z chwili porodu, a z kontaktu mleko matki-układ pokarmowy dziecka [19]. Nie tylko mleko matki, ale również siara zawierają unikalną mikrobiotę. Na tej podstawie wysunięto przypuszczenie, że bakterie jelitowe mogą być selektywnie transportowane nie tylko do macicy, ale również do gruczołów piersiowych, gdzie, jak się uważa, są przenoszone przez makrofagi i komórki dendrytyczne przewodu pokarmowego. Zaobserwowano, że dzieci karmione mlekiem matki i mlekiem sztucznym różnią się składem mikrobioty jelitowej [5, 10].

Warto zaznaczyć, że skład mikrobioty smółki zależy również od tego, czy dziecko rodziło się poprzez kanał rodny, czy zastosowano metodę cesarskiego cięcia. W każdym z tych przypadków mikrobiota smółki może być nieco podobna, odpowiednio – do mikrobioty pochwy lub skóry. Zredukowana różnorodność mikrobioty smółki koreluje z niedojrzałością noworodków. Ponadto mikrobiota smółki charakteryzuje się wysoką zmiennością międzyosobniczą [2].

Drobnoustroje są więc ważnym czynnikiem biologicznym dziedziczonym po matce. Ostateczny skład mikrobioty dziecka ma niezwykle istotne znaczenie, ponieważ, jak już wspomniano wcześniej, może zwiększać ryzyko zachorowania na niektóre schorzenia przewlekłe, np. choroby alergiczne, otyłość oraz autyzm [2].

PODSUMOWANIE

Jest faktem powszechnie znanym, że mikrobiota wpływa na zdrowie i funkcjonowanie naszego organizmu. Wpływ mikrobioty na zdrowie dorosłego człowieka stał się tematem

wielu badań i publikacji naukowych. Ma to związek m.in. z rozwojem nowoczesnych technik diagnostycznych i wykryciem obecności mikroorganizmów w wielu narządach, uznawanych do tej pory za jałowe. Cały czas bez odpowiedzi pozostają jednak podstawowe pytania odnośnie do mikrobioty macicy: jaki jest jej faktyczny skład? Jakie są mechanizmy kolonizacji i przetrwania mikrobioty w endometrium macicy? Jakie są wzajemne relacje pomiędzy mikrobiotą macicy a komórkami endometrialnymi? Jak przebiegają interakcje, na poziomie molekularnym i genetycznym, zachodzące pomiędzy drobnoustrojami a komórkami endometrium? Jakie metabolity wydzielają bakterie i jakich substancji potrzebują do wzrostu? [14]

Kolejny krok w badaniach nad mikrobiotą układu rozrodczego to przełożenie posiadanej wiedzy na praktykę kliniczną – zwłaszcza w obszarze leczenia zaburzeń reprodukcyjnych, a także wpływu mikrobioty na rozwój płodu i zdrowie przyszłego noworodka. Dalszych badań wymaga również wyjaśnienie możliwości i zakresu międzypokoleniowej transmisji mikrobioty.

PIŚMIENICTWO

- Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Front Immunol.* 2018; 9: 1–16. doi: 10.3389/fimmu.2018.00208
- D'Argenio V. The prenatal microbiome – a new player for human health. *High-Throughput.* 2018; 38: 1–10. doi: 10.3390/ht7040038
- Benner M, Ferwerda G, Joosten I, van der Molen RG. How uterine microbiota might be responsible for receptive, fertile endometrium. *Hum Reprod Update.* 2018; 24: 393–415.
- Franasiak JM, Scott RT. Endometrial microbiome. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2017; 29: 146–152.
- Perez-Munoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, Walter J. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome.* 2017; 48: 1–19. doi: 10.1186/s40168-017-0268-4
- Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med.* 2014; 237: 1–22. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599
- Koedooder R, Mackens S, Budding A, Fares D, Blockeel C, Laven J, et al. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. *Hum Reprod Update.* 2019; 25: 298–325.
- Altmäe S. Commentary: Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Front Immunol.* 2018; 9: 1–3. doi: 10.3389/fimmu.2018.01874
- Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine – related diseases. *Nat Commun.* 2017; 875: 1–11. doi: 10.1038/s41467-017-00901-0
- Younes JA, Lievens E, Hummelen R, Van der Westen R, Reid G, Petrova MI. Women and their microbes: the unexpected friendship. *Trends Microbiol.* 2018; 26: 16–32.
- Blacha A, Machczyński M. Ocena wybranych wykładników stanu zapalnego u kobiet ciężarnych w kontekście czystości mikrobiologicznej pochwy. Rozprawa doktorska wspólna, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, Wydział Lekarski II, Poznań, 2015; 9–27.
- Li F, Chen C, Wei W, Wang Z, Dai J, Hao L, et al. The metagenome of the female upper reproductive tract. *GigaScience.* 2018; 7: 1–8. doi: 10.1093/gigascience/giy107
- Moreno I, Franasiak JM. Endometrial microbiota – new player in town. *Fertil Steril.* 2017; 108: 32–39.
- D'Ippolito S, Di Nicuolo F, Pontecorvi A, Gratta M, Scambia G, Di Simone N. Endometrial microbes and microbiome: recent insights on the inflammatory and immune „players” of the human endometrium. *Am J Reprod Immunol.* 2018; 80: 1–8. doi: 10.1111/aji.13065
- Pelzer ES, Willner D, Buttini M, Huygens F. A role for the endometrial microbiome in dysfunctional menstrual bleeding. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2018; 111: 933–943.
- Bellver J, Simón C. Implantation failure of endometrial origin: what is new? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2018; 30: 229–235.
- Bracewell-Milnes T, Saso S, Nikolaou D, Norman-Taylor J, Johnson M, Thum M-Y. Investigating the effect of an abnormal cervico-vaginal and endometrial microbiome on assisted reproductive technologies: a systematic review. *Am J Reprod Immunol.* 2018; 80: 1–17. doi: 10.1111/aji.13037
- Pelzer E, Gomez-Arango LF, Barrett HL, Nitert MD. Review: maternal health and the placental microbiome. *Placenta.* 2017; 54: 30–37.
- Wassenaar TM, Panigrahi P. Is a foetus developing in a sterile environment? *Lett Appl Microbiol.* 2014; 59: 572–579.
- Zhu L, Luo F, Hu W, Han Y, Wang Y, Zheng H, et al. Bacterial communities in the womb during healthy pregnancy. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1–6. doi: 10.3389/fmicb.2018.02163
- Leiby JS, McCormick K, Sherrill-Mix S, Clarke EL, Kessler LR, Taylor LJ, et al. Lack of detection of a human placenta microbiome in samples from preterm and term deliveries. *Microbiome.* 2018; 196: 1–11. doi: 10.1186/s40168-018-0575-4
- Rehbinder EM, Lødrup Carlsen KC, Staff AC, Angell IL, Landrø L, Hilde K, et al. Is amniotic fluid of women with uncomplicated term pregnancies free of bacteria? *Am J Obstet Gynecol.* 2018; 219: 289.e1–289.e12. doi: 10.1016/j.ajog.2018.05.028
- Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, Mysorekar IU, Jacobsson B. Maternal microbiome – a pathway to preterm birth. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2016; 21: 94–99.
- Solt I. The human microbiome and the great obstetrical syndromes: a new frontier in maternal – fetal medicine. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015; 29: 165–175.
- Chen HJ, Gur TL. Intrauterine microbiota: missing, or the missing link? *Trends Neurosci.* 2019; 30: 1–12. doi: 10.1016/j.tins.2019.03.008
- Cauchie M, Desmet S, Lagrou K. Candida and its dual lifestyle as a commensal and a pathogen. *Res Microbiol.* 2017; 168: 802–810. doi: 10.1016/j.resmic.2017.02.005
- Onderdonk AB, Delaney ML, Fichorova RN. The human microbiome during bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29: 223–238. doi: 10.1128/CMR.00075-15
- Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider M, Koenig SSK, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 4680–4687. doi: 10.1073/pnas.1002611107
- Lamont RF. Advances in the prevention of infection-related preterm birth. *Front Immunol.* 2015; 16: 566. doi: 10.3389/fimmu.2015.00566
- Diop K, Dufour J-C, Levasseur A, Fenollar F. Exhaustive repertoire of human vaginal microbiota. *Human Microbiome Journal.* 2019; 11: 100051.
- DiGiulio DB, Callahan BJ, McMurdie PJ, Costello EK, Lyell DJ, Robaczewska A, et al. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc Natl Sci USA.* 2015; 112: 11060–11065. doi: 10.1073/pnas.1502875112
- Greenbaum S, Greenbaum G, Moran-Gilad J, Weintraub AY. Ecological dynamics of the vaginal microbiome in relation to health and disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2019; 220: 324–335. doi: 10.1016/j.ajog.2018.11.1089
- Sobouti B, Fallah S, Mobayen M, Noorbakhsh S, Ghavami Y. Colonization of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women and their transmission to offspring. *Iran J Microbiol.* 2014; 6: 219–24.
- Waites KB, Katz B, Schelonka RL. *Mycoplasmas* and *Ureaplasmas* as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2005; 18: 757–89.
- Patras KA, Nizet V. Group B streptococcal maternal colonization and neonatal disease: molecular mechanisms and preventative approaches. *Front Pediatr.* 2018; 6: 27. doi: 10.3389/fped.2018.00027
- Strzępa A, Lobo FM, Majewska-Szczepanik M, Szczepanik M. Antibiotics and autoimmune and allergy diseases: Causative factor or treatment? *Int Immunopharmacol.* 2018; 65: 328–341. doi: 10.1016/j.intimp.2018.10.021
- Krishnan K, Chen T, Paster BJ. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral Dis.* 2016; 23: 276–286.
- Fujiwara N, Tsuruda K, Iwamoto Y, Kato F, Odaki T, Yamane N, et al. Significant increase of oral bacteria in the early pregnancy period in Japanese women. *Investig Clin Dent.* 2017; 8: doi: 10.1111/jicd.12189
- Cassini MA, Pilloni A, Condo SG, Vitali LA, Pasquantonio G, Cerroni L. Periodontal bacteria in the genital tract: are they related to adverse pregnancy outcome? *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2013; 26: 931–939.
- Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15: 30–44.
- Komine-Aizawa S, Aizawa S, Hayakawa S. Periodontal diseases and adverse pregnancy outcomes. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019; 45: 5–12. doi: 10.1111/jog.13782

42. Corbella S, Taschieri S, Francetti L, De Siena F, Del Fabbro M. Periodontal disease as a risk factor for adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *Odontology*. 2012; 100: 232–240.
43. Wei BJ, Chen YJ, Yu L, Wu B. Periodontal disease and risk of preeclampsia: a meta-analysis of observational studies. *PLoS One*. 2013; 8: e70901.
44. Esteves Lima RP, Cyrino RM, De Carvalho DB, Oliveira da Silveira J, Martins CC, Miranda Cota LO, et al. Association between periodontitis and gestational diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2016; 87: 48–57.
45. Ao M, Miyauchi M, Furusho H, Inubushi T, Kitagawa M, Nagasaki A, et al. Dental infection of *Porphyromonas gingivalis* induces preterm birth in mice. *PLoS One*. 2015; 10: e0137249.
46. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum* – symbiont, opportunist and oncobacterium. *Nat Rev Microbiol*. 2019; 17, 156–166. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0129-6>
47. Swati P, Thomas B, Vahab SA, Kapaettu S, Kushtagi P. Simultaneous detection of periodontal pathogens in subgingival plaque and placenta of women with hypertension in pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. 2012; 285: 613–619.
48. Vanterpool SF, Been JV, Houben ML, Nikkels PG, de Krijger RR, Zimmermann LJ, et al. *Porphyromonas gingivalis* within placental villous mesenchyme and umbilical cord stroma is associated with adverse pregnancy outcome. *PLoS One*. 2016; 11: e0146157.
49. Jiang H, Zhang Y, Xiong X, Harville EW, Karmin O, Qian X. Salivary and serum inflammatory mediators among pre-conception women with periodontal disease. *BMC Oral Health*. 2016; 16: 131.
50. Kell BD, Kenny LC. A dormant microbial component in the development of preeclampsia. *Front Med (Lausanne)*. 2016; 3: 60. doi: 10.3389/fmed.2016.00060
51. Takii R, Kadowaki T, Tsukuba T, Yamamoto K. Inhibition of gingipains prevents *Porphyromonas gingivalis*-induced preterm birth and fetal death in pregnant mice. *Eur J Pharmacol*. 2018; 824: 48–56.
52. Parnell LA, Briggs CM, Mysorekar IU. Maternal microbiomes in preterm birth: recent progress and analytical pipelines. *Semin Perinatol*. 2017; 41: 392–400.